



JP56109590

Biblio

Page

esp@cenet

**PRODUCTION OF CLATHRATE COMPOUND OF COENZYME Q10**

Patent Number: JP56109590
Publication date: 1981-08-31
Inventor(s): YONEZAWA YASUO; others: 03
Applicant(s): ZERIA SHINYAKU KOGYO KK
Requested Patent: ☐ JP56109590
Application Number: JP19800012588 19800205
Priority Number(s):
IPC Classification: C12P1/68
EC Classification:
Equivalents:

Abstract

PURPOSE:One mole of coenzyme Q10 is included in 1mol of beta- or gamma-cyclodextrin to form a water-soluble clathrate, resulting in coenzyme Q10 with increased stability to light and oxygen in the air.
CONSTITUTION:To an aqueous saturated solution of beta- or gamma-cyclodextrin, is added a solution of 1mol of coenzyme Q10/mol of the cyclodextrin in ether, iso-octane or their mixture and they are stirred. Then, the solution is stood under cooling to 5 deg.C. The precipitate is filtered and dried with air or under reduced pressure to give a powder, that is, the objective clathrate. the resultant clathrate is identified by differential thermal analysis and melting point. In the differential thermal analysis of coenzyme Q10, a sharp endothermal peak caused by melting is observed near to 50 deg.C.

Data supplied from the esp@cenet database - 12

⑪ 特許出願公開

⑫ 公開特許公報 (A)

昭56—109590

6) Int. Cl.³
C 12 P 7/66

識別記号

厅内整理番号
6760-4B

公開 昭和56年(1981)8月31日

発明の数 1
審査請求 未請求

(全 3 頁)

⑤補酵素Q₁₀の包接化合物の製造方法

第二團地 1—27—102

特 願 昭55-12586

發明者 高木要

出 庫 昭55(1980)2月5日

多摩市和田1261-29-404

⑦発 明 者 米沢保雄

◎発 明 者 徳川天雄

東京都板橋区 equal 野町 4-23-31
第一福寿荘 2号

横浜市緑区美しが丘2-44-3

⑦発 明 者 松田和夫

⑩出 願 人 ゼリア新薬工業株式会社
東京都中央区日本橋小舟町10番
11号

上尾市大字小敷谷77-1 西上尾

⑦代理人 弁理士 山田恒光

明 細 表

1. 発明の名称

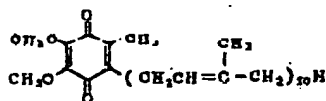
補綴基 Q_{11} の包接化合物の製造方法

2. 特肝精末の服用

1) 補酵素 Q_{10} 1 モルに対し ρ -又は γ -デキストリン 1 モルを包接せしめることを特徴とする補酵素 Q_{10} の包接化合物の製造方法。

3. 発明の詳細な説明

補酵素-Q₁₀ (Coenzyme-Q₁₀, Ubiquinone+50) は、呼吸酵素系(電子伝達連鎖)において重要な役割を担う物質であり、次のような構成を有している。



前配補酵素 Q_{10} は、ニコチンアミドアデニンジ
ヌクレオチド ($NADH_2$) とはく酸、チトクロ
ムと、エレクトロントランスポートパータイ
クル (electron transport particle: ETP) を形成
して電子伝達を行う。また、前配補酵素 Q_{10} は生
理的物質であるが化学合成によつても作られ、

(1)

生化学試薬として使われると共に医薬品（循環系改善薬）としても用いられている。

補酵素 Q_{10} は、以上のように有用な物質であるが、水に不溶性であるため、液剤（内服液、注射液）として用いる際には種々の界面活性剤により可溶化している。然し乍ら、界面活性剤を人体に投与することは、特に注射剤としての場合において毒血作用が問題となる。本発明は界面活性剤を使用することなしに水に溶解し得る製剤、即ち、人体投与において害のない液剤を提供しようとするものである。従来、不溶性化合物の可溶化法の１つとしてシクロデキストリンによる包接化が提案されており、また、キノンの包接化についても既に知られている（*Chem. Ber.*, 92, 378 (1957)）がその組成や可溶化効果に関しては全く知られていない。本発明において用いるシクロデキストリンは澱粉または澱粉加水分解物にシクロデキストリングリコシルトランスフェラーゼ（*Cyclodextrin Glycosyltransferase* : CGTase）を作用させ

(2)

て得られる物質であり、 α -、 β -及び γ -体が一般に知られており、各々、D-グルコピラノースの6、7及び8個が環状に α -1,4結合したものである。

本発明者等はこのようなシクロデキストリン類がその環状構造内に他の物質(ゲスト)を包接せしめる性質を有することを考慮し、糊酵素 Q_{10} と β -または γ -シクロデキストリンとを反応せしめて得られる包接化合物が水に可溶性となることを見出した。

本発明により得られる包接化合物は示差熱分析及び融点測定法などの方法により確認される。即ち、示差熱分析において糊酵素 Q_{10} の集合は50℃付近に融解による鋭い吸熱ピークが観察され、276℃より重量減少を伴う分解が見られる。また、糊酵素 Q_{10} とシクロデキストリンとの各等モルの単なる混合物の場合も50℃に糊酵素 Q_{10} の融解による吸熱ピークが認められるが、本包接化合物ではこのような糊酵素 Q_{10} に起因する吸熱ピークは消失し融解点は上昇する。また、本

(3)

加え、これにシクロデキストリン1モルに対し約1モルの糊酵素 Q_{10} を、エーテル、アセトンまたはイソオクタンもしくはそれらの混合液に溶解したものを加えてペースト状とする。その後、得られたペースト状物質を通気、減圧または凍結乾燥などの適当な方法により乾燥させて粉末とし目的の包接化合物を得る。

以下に実施例を示して本発明を詳細に説明する。

実施例1

糊酵素 Q_{10} 4.3gをエーテル・アセトン混液(6:4) 20mlに溶解し、この溶液を、 β -シクロデキストリン(日本食品化工製、以下省略) 5.6gを水 300mlに溶解した溶液に攪拌しながら加える。4~6時間攪拌を続けた後、数時間40℃に保持して有機溶媒を飛散させる。その後、溶液を約5℃に保持し、生成した沈澱をろ取り風乾後、アセトンで洗滌し減圧下で乾燥して β -シクロデキストリン・糊酵素 Q_{10} 包接化合物(β -CD- Q_{10}) 8g(収率:80.8%)を得た。

(5)

包接化合物に α -アミラーゼを作用させてそのシクロデキストリン部分を分解した後、シクロデキストリン構成単位であるグルコースの量をソモギー・ネルソン(Somogyi Nelson)法で測定し、一方、包接されていた糊酵素 Q_{10} の量を吸光光度法(400nm)で測定した結果、本包接化合物はシクロデキストリンと糊酵素 Q_{10} が1:1のモル比で結合していることが認められた。

本発明の水に可溶性包接化合物を製造する方法においては飽和水溶液法及び混練法の何れをも採用し得る。即ち、飽和水溶液法においては、用いるシクロデキストリンの飽和水溶液に、シクロデキストリン1モルに対し約1モルの糊酵素 Q_{10} をエーテル、アセトンまたはイソオクタン、もしくはそれらの混合液に溶解したものを加えて攪拌する。その後、溶液を約5℃に冷却して放置し、生成した沈澱をろ取り、通気、減圧などの適当な方法により乾燥させて粉末化し目的の包接化合物を得る。また、混練法においては、用いるシクロデキストリンに1~3倍量の水を

(4)

示差熱分析: 82~110℃で徐々に融解、290℃以上で分解。特性赤外線吸収: 3400(OH), 2900(CH), 1640, 1150, 1015。

実施例2

β -シクロデキストリン 10gに水 20mlを加え数分間混練して得たペーストに、糊酵素 Q_{10} 8gをエーテル・アセトン混液(4:6) 30mlに溶解した溶液を少量ずつ加えながら混ぜ合せ約8時間攪拌し合わせる。その後、混練物を約30℃で風乾し粉碎した後アセトン・水混液(7:3)で洗滌し減圧で乾燥して包接化合物(β -CD- Q_{10}) 15g(収率:83%)を得た。

示差熱分析、特性赤外線吸収、共に実施例1と同じ。

実施例3

糊酵素 Q_{10} 2.8gをエーテル・アセトン混液(6:4) 15mlに溶解し、この溶液を、 γ -シクロデキストリン(日本食品化工製、以下省略) 4gを水 17mlに溶解した溶液に攪拌しながら少量ずつ加える。3~5時間攪拌を続けた後、数時間約40

(6)

に保持して有機溶媒を飛散させ、以下実施例 1 と同様にして γ -シクロデキストリン・補酵素 Q_{10} 包接化合物 (γ -CD \cdot Q_{10}) 5.4 g (収率: 79.4%) を得た。

示差熱分析、特性赤外線吸収、共に実施例 1 と同じ。

実施例 4

γ -シクロデキストリン 5 g に水 5 ml を加え数分間攪拌して得たペーストに、補酵素 Q_{10} 3.5 g をエーテル・アセトン混液 (4:6) 10 ml に溶解した溶液を少量ずつ加えながら混ぜ合わせ約 6 時間攪拌合わせる。その後、懸濁物を約 30℃ で風乾し粉砕した後アセトン・水混液 (8:2) で洗滌し、以下実施例 2 と同様にして包接化合物 (γ -CD \cdot Q_{10}) 6.8 g (収率: 80%) を得た。

示差熱分析、特性赤外線吸収、共に実施例 1 と同じ。

上記実施例 1～4 より得られた包接化合物はいずれも水に可溶であり、内服液、注射液とし

(7)

0.2% 水溶液を作成し、25℃ で 10000 ルックスの光を照射した後、 α -アミラーゼで処理し、遊離した補酵素 Q_{10} をエーテルで抽出し、グリーン (Green) らの方法 [Advance in Enzymology, 25, 275 (1963)] に従って補酵素 Q_{10} の量を測定した。その結果、包接化合物は表 II に示す如く光に対して優れた安定性を示した。

表 II 補酵素 Q_{10} の残存率 (%)

試料 \ 照射時間 (h)	0	2	4	6	8	10
補酵素 Q_{10} (対照)	100	90	88	84	80	70
β -CD \cdot Q_{10}	100	98	98	94	91	85
γ -CD \cdot Q_{10}	100	98	98	98	98	98

実験例 3

実験例 2 と同様の溶液に、20℃ で、流量を一定にして空気を吹き込んだ後、 α -アミラーゼで処理し、以下実験例 2 と同様にして補酵素 Q_{10} の量を測定した。その結果、包接化合物は表 III に示す如く空気酸化に対し優れた安定性を示した。

(9)

特開昭 56-109590(3)

て好適に使用できる。また、前記包接化により、補酵素 Q_{10} は光及び空気中の酸素に対して安定となる。以下に本発明の方法により製造した包接化合物の可溶化効果と、それに伴う安定化効果を実験例にて詳細に説明する。

実験例 1

包接化合物 (β -CD \cdot Q_{10} 及び γ -CD \cdot Q_{10}) の水及び生理食塩水に対する溶解度は表 I に示すとおりである。

表 I 溶解度 (g/100 ml) . 25℃

試料 \ 溶媒	水	生理食塩水
補酵素 Q_{10} (対照)	n	n
β -CD \cdot Q_{10}	0.2	0.18
γ -CD \cdot Q_{10}	1.40	1.24

また、溶液中に尿素を添加することによつて包接化合物の溶解度を上昇させることができる。

実験例 2

包接化合物 (β -CD \cdot Q_{10} 及び γ -CD \cdot Q_{10})

(8)

表 III 補酵素 Q_{10} の残存率 (%)

試料 \ 通気時間 (h)	0	2	4	6	8	10
補酵素 Q_{10} (対照)	100	80	74	70	61	55
β -CD \cdot Q_{10}	100	94	91	90	87	82
γ -CD \cdot Q_{10}	100	99	99	99	98	98

実験例 4

包接化合物 (β -CD \cdot Q_{10} 及び γ -CD \cdot Q_{10}) を粉末のまま 60℃ に保ち、一定時間ごとに試料の一定量を採取して水に溶解し、 α -アミラーゼで処理し、以下実験例 2 と同様にして補酵素 Q_{10} の量を測定した。その結果、包接化合物は表 IV に示す如く苛酷経時試験で優れた安定性を示した。

表 IV 補酵素 Q_{10} の残存率 (%)

試料 \ 経過日数 (日)	0	10	20	30
補酵素 Q_{10} (対照)	100	90	85	74
β -CD \cdot Q_{10}	100	96	92	91
γ -CD \cdot Q_{10}	100	99	99	97

10

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ **BLACK BORDERS**
- ☐ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- ☐ **FADED TEXT OR DRAWING**
- ☐ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- ☐ **SKEWED/SLANTED IMAGES**
- ☐ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- ☐ **GRAY SCALE DOCUMENTS**
- ☐ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- ☐ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- ☐ **OTHER:** _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.